

## フェンピロキシメート試験法（畜産物）

### 1. 分析対象化合物

フェンピロキシメート

(*E*)-4-[(1,3-ジメチル-5-フェノキシピラゾール-4-イル)メチレンアミノオキシメチル]安息香酸(以下「代謝物D」という。)

### 2. 適用食品

畜産物

### 3. 装置

液体クロマトグラフ・タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS)

### 4. 試薬、試液

次に示すもの以外は、総則の3に示すものを用いる。

フェンピロキシメート標準品 本品はフェンピロキシメート95%以上を含む。

代謝物D標準品 本品は代謝物D 95%以上を含む。

### 5. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出

試料10.0 gにアセトン100 mLを加え、ホモジナイズした後、毎分3,000回転で10分間遠心分離し、上澄液を採る。残留物にアセトン50 mLを加えてホモジナイズし、上記と同様に遠心分離し、上澄液を採る。得られた上澄液を合わせ、アセトンを加えて正確に200 mLとする。この溶液から正確に2 mLを分取し、40°C以下で濃縮し溶媒を除去する。この残留物に*n*-ヘキサン30 mLを加え、*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を合わせ、40°C以下で約2 mLに濃縮する。

#### 2) 精製

トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム (500 mg) にアセトニトリル10 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに1) で得られた溶液を注入した後、アセトニトリル10 mLを注入し、負荷液を含む全溶出液を採り、フェンピロキシメート画分 (溶出液I) とする。次いで、0.5 vol% 酢酸・アセトニトリル溶液10 mLを注入し、溶出液を採り、代謝物D画分 (溶出液II) とする。溶出液I及び溶出液IIをそれぞれ40°C以下で濃縮し、溶媒を除去する。各残留物をアセトニトリルに溶かし、それぞれ正確に5 mLとしたものを試験溶液とする。

### 6. 検量線の作成

フェンピロキシメート標準品及び代謝物D標準品のアセトニトリル溶液を数点調製し、それぞれLC-MS/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。なお、本法に従って試験溶液を調製した場合、試料中0.005 mg/kgに相当する試験溶液中の濃度は0.0001 mg/L (フェンピロキシメート換算) である。

## 7. 定量

試験溶液をLC-MS/MSに注入し、6. の検量線でフェンピロキシメート及び代謝物Dの含量を求める。  
代謝物Dを含むフェンピロキシメートの含量を求める場合には、次式により求める。

フェンピロキシメート（代謝物Dを含む）の含量（ppm）＝A+B×1.154

A：フェンピロキシメートの含量（ppm）

B：代謝物Dの含量（ppm）

## 8. 確認試験

LC-MS/MSにより確認する。

## 9. 測定条件

（例）

カラム：オクタデシルシリル化シリカゲル 内径2.1 mm、長さ150 mm、粒子径3 μm

カラム温度：40°C

移動相：アセトニトリル及び0.1 vol%ギ酸の混液（1：9）から（9：1）までの濃度勾配を10分間で行い、10分間保持する。

イオン化モード：ESI（+）

主なイオン（*m/z*）

フェンピロキシメート：プリカーサーイオン422、プロダクトイオン366、138

代謝物D：プリカーサーイオン366、プロダクトイオン138、77

注入量：5 μL

保持時間の目安

フェンピロキシメート：13分

代謝物D：10分

## 10. 定量限界

各化合物0.005 mg/kg（代謝物Dはフェンピロキシメート換算）

## 11. 留意事項

### 1) 試験法の概要

フェンピロキシメート及び代謝物Dを試料からアセトンで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配で脱脂した後、トリメチルアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムで精製し、LC-MS/MSで定量及び確認する方法である。

### 2) 注意点

① 精製において、フェンピロキシメート画分と代謝物D画分を合わせて測定を行うと、代謝物Dの測定において夾雑物の影響を受けることがあるため別々に測定する。夾雑物の影響が無い場合には、両画分を合わせて測定することも可能である。なお、検量線の作成に用いる標準溶液は混合

して調製しても良い。

② 開発時に用いた遠心分離機における毎分3,000回転は、約1,490×gである。

③ フェンピロキシメート及び代謝物DのLC-MS/MS測定で、試験法開発時に使用したイオンを以下に示す。

フェンピロキシメート

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン366

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン422、プロダクトイオン138

代謝物D

定量イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン366、プロダクトイオン138

定性イオン ( $m/z$ ) : プリカーサーイオン366、プロダクトイオン77

④ 試験法開発時に検討した食品：牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛乳

## 12. 参考文献

なし

## 13. 類型

C